

FACULDADE SANTO AGOSTINHO

CURSO: BACHARELADO EM FARMÁCIA

DISCIPLINA: QUÍMICA FARMACÊUTICA MEDICINAL

PROFESSOR: DR. CHARLLYTON SENA

DESENVOLVIMENTO IN SÍLICO DE UMA MOLÉCULA CANDIDATA A NOVO FÁRMACO A PARTIR DO ATENOLOL

TERESINA

NOV. DE 2015

Enio Rodrigo Mineiro de Andrade

Isabela César Daniel

DESENVOLVIMENTO IN SÍLICO DE UMA NOVA MOLÉCULA CANDIDATA A FÁRMACO A PARTIR DO ATENOLOL

Trabalho apresentado ao professor ministrante da disciplina de Química Farmacêutica Medicinal para o curso de Bacharelado em Farmácia da Faculdade Santo Agostinho como requisito parcial na avaliação e conclusão da disciplina.

Teresina

Nov. de 2015

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial, podendo ser tratada com os betabloqueadores, que vão diminuir a frequência e inibir a secreção de renina. Para a confecção da nova molécula utilizou-se a modificação molecular, que consiste em alterar quimicamente uma molécula conhecida de modo a produzir análogos do fármaco base. Teve-se como base o atenolol, foi modificada sua estrutura a fim de que melhorasse principalmente sua lipossolubilidade, utilizou-se mais dois fármacos da mesma classe para ações comparativas de eficácia e segurança da molécula criada, avaliando as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas.

Um ponto importante que se conseguiu manter mesmo aumentando a lipofilicidade foi a passagem pela barreira hematoencefálica, continuou como o esperado com baixa capacidade de a ultrapassar passivamente, para que assim se mantivesse sem possíveis efeitos no SNC. Quanto a análise toxicológica, conseguiu-se manter um baixo risco de cardiotoxicidade e resultado negativo para o reste de AMES. Além disso, utilizou-se o OSIRIS, um portal que amplia e confirma as informações farmacocinéticas, toxicológicas e físico-químicas, confere informações ainda quanto a polaridade e quanto ao potencial de ser um bom fármaco, se é irritante ou tumorigênico. A polaridade se manteve ideal para que a molécula, se se tornar um fármaco, seja absorvida e excretada de forma equilibrada, bem como obteve um ótimo potencial para ser um bom fármaco, ultrapassando os números do propranolol.

Palavras-chave: atenolol, modificação molecular, análise comparativa, OSIRIS.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

A HAS tem alta prevalência e baixas taxas de controle, é considerada um dos principais fatores de risco (FR) modificáveis e um dos mais importantes problemas de saúde pública. A mortalidade por doença cardiovascular (DCV) aumenta progressivamente com a elevação da PA a partir de 115/75 mmHg de forma linear, contínua e independente1. Em 2001, cerca de 7,6 milhões de mortes no mundo foram atribuídas à elevação da PA (54% por acidente vascular encefálico - AVE e 47% por doença isquêmica do coração - DIC)4, sendo a maioria em países de baixo e médio desenvolvimento econômico e mais da metade em indivíduos entre 45 e 69 anos. Em nosso país, as DCV têm sido a principal causa de morte. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

O objetivo primordial do tratamento da hipertensão arterial é a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares1,2. Assim, os anti-hipertensivos devem não só reduzir a pressão arterial, mas também os eventos cardiovasculares fatais e não-fatais, e, se possível, a taxa de mortalidade. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

Existe um grupo de medicamentos úteis na hipertensão arterial, são os betabloqueadores. Seu mecanismo anti-hipertensivo envolve diminuição inicial do débito cardíaco, redução da secreção de renina, readaptação dos barorreceptores e diminuição das catecolaminas nas sinapses nervosas. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

A redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares é bem documentada em grupos de pacientes com idade inferior a 60 anos3,4,7,8 (A). Estudos e metanálises recentes27–29 não têm apontado redução de desfechos relevantes, principalmente acidente vascular encefálico, em pacientes com idade superior a 60 anos, situação em que o uso dessa classe de medicamentos seria reservada para situações especiais, como nos

portadores de coronariopatia, com disfunção sistólica, arritmias cardíacas ou infarto do miocárdio prévio. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

As principais reações adversas são: broncoespasmo, bradicardia, distúrbios da condução atrioventricular, vasoconstrição periférica, insônia, pesadelos, depressão psíquica, astenia e disfunção sexual. Os betabloqueadores de primeira e segunda geração podem acarretar também intolerância à glicose, induzir ao aparecimento de novos casos de diabetes, hipertrigliceridemia com elevação do LDL-colesterol e redução da fração HDL-colesterol. O impacto sobre o metabolismo da glicose é potencializado quando os betabloqueadores são utilizados em combinação com diuréticos. O efeito sobre o metabolismo lipídico parece estar relacionado à dose e à seletividade, sendo de pequena monta com o uso de baixas doses de betabloqueadores cardiosseletivos. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

A suspensão brusca dos betabloqueadores pode provocar hiperatividade simpática, com hipertensão de rebote e/ ou manifestações de isquemia miocárdica, sobretudo em hipertensos com pressão arterial prévia muito elevada. Devem ser utilizados com cautela em pacientes com doença vascular de extremidade. (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010)

Há evidências bem estabelecidas de que os betabloqueadores reduzem efetivamente ambas as pressões, sistólica e diastólica, e também a hipertensão sistólica isolada. O bloqueio dos receptores β1 adrenérgicos cardíacos causa redução da frequência cardíaca e da contratilidade, com a consequente redução do débito cardíaco, enquanto a ação nas células justaglomerulares renais diminui a liberação de renina. Também existem relatos de que os betabloqueadores promovem readaptação dos barorreceptores e diminuição das catecolaminas nas sinapses nervosas. (DEPARTAMENTOS CARDILOL, 2015)

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma nova molécula a partir de um protótipo da classe dos β-bloqueadores de segunda geração, utilizando a ferramenta de modificação molecular. Com a finalidade de obter um possível fármaco melhor e mais ativo do que o protótipo, observando também as condições mercadológicas e econômicas para este fim.

2. METODOLOGIA

Para a confecção da nova molécula utilizou-se a modificação molecular, que consiste em alterar quimicamente uma molécula conhecida de modo a produzir análogos do fármaco base. Aumentando assim a probabilidade de obtenção de moléculas ativas relacionadas à molécula original, objetivando a diminuição de custos para produção e para aquisição do produto, facilitando o manejo, aumentando ainda especificidade, duração de ação, potência e estabilidade do fármaco a ser criado.

Utilizou-se modelos in sílico, programas como o ChemSketch, MarvinSketch para confecção e análise das propriedades físico-químicas das moléculas. E sites como o PREADMET para análise das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas, além desses, o organic chemistry portal também serviu de embasamento para confirmar a parte toxicológica, farmacocinética e físico-química da nova molécula e ainda informar sobre a capacidade da molécula de se tornar um bom fármaco e sua polaridade.

Fez-se a análise comparativa entre a nova molécula e outros fármacos da classe escolhida para que assim, surgisse uma molécula que pudesse se tornar um potencial fármaco, melhor e mais ativo que o protótipo escolhido para a modificação. Para a escolha da classe ainda se observou o potencial mercadológico que tem essa classe de fármacos e o aspecto econômico, para tomar a decisão se seria ou não viável fazer a confecção de uma molécula desta classe.

Para a confecção do trabalho utilizou-se de bases científicas como artigos científicos, sites com conteúdo desejável, e livros que tratam de modificação molecular.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nenhuma outra área da Química, o conhecimento completo da estrutura molecular é tão essencial como na Química Medicinal. Esta disciplina das Ciências Farmacêuticas estuda as origens moleculares da atividade biológica dos fármacos, determinando os parâmetros que relacionam estrutura e atividade e aplicando estes fundamentos no planejamento racional dos fármacos. (BARREIRO et al, 1997)

A modelagem da estrutura molecular por métodos computacionais surgiu como uma alternativa, especialmente após o desenvolvimento de programas capazes de calcular a estrutura com um compromisso adequado entre velocidade e precisão, somados aos recursos da computação gráfica e à crescente diminuição dos custos de máquinas de alto desempenho capazes de operar estes programas e recursos. (BARREIRO et al, 1997)

A molécula protótipo escolhida foi o fármaco Atenolol, um anti-hipertensivo da classe dos β-bloqueadores. Este fármaco é um adrenérgico beta 1 seletivo. Seu mecanismo se baseia na diminuição da frequência cardíaca, que posteriormente irá levar a uma diminuição do débito cardíaco, e consequentemente da pressão arterial.

Além disso, conta também com a inibição da renina, que seria responsável por converter angiotensinogênio em angiotensina I, que com a ajuda da ECA (enzima conversora de angiotensina) iria levar a formação de angiotensina II, potente vasoconstritor. Dessa forma, sem estes mecanismos, tem-se a diminuição da pressão arterial.

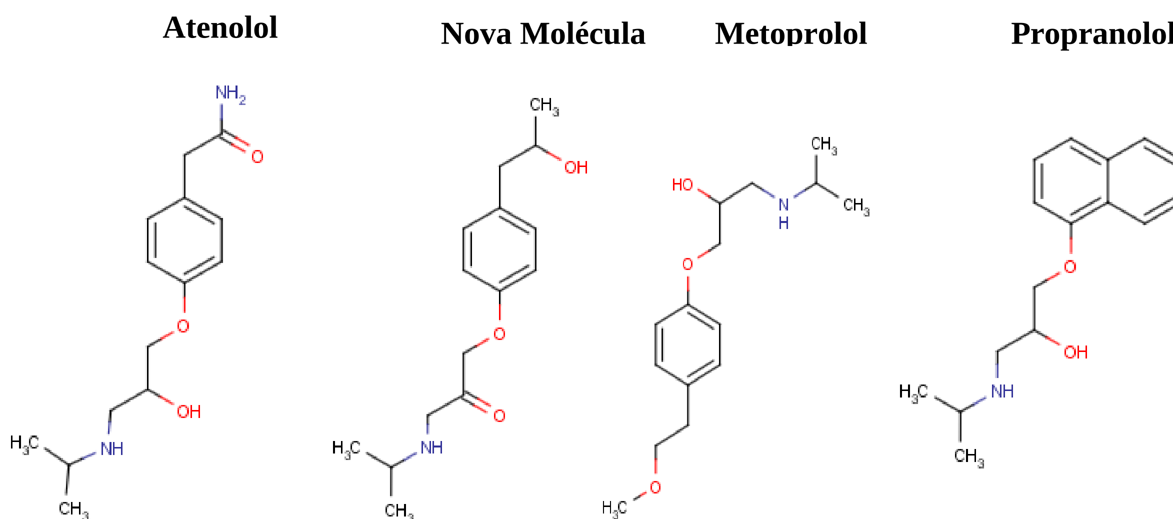
O atenolol é bloqueador b_1 seletivo. Com essa droga, observa-se menor incidência de efeitos colaterais do que com o propranolol, por causa de sua menor lipossolubilidade. É o mais seletivo β_1 entre os antagonistas adrenérgicos. Ele é bastante utilizado na prevenção de disritmias supraventriculares recorrentes e no controle da hipertensão arterial e da angina estável. (BOSCO E BRAZ, 2001)

Aproximadamente 50% do atenolol são absorvidos por via oral, com baixa fixação às proteínas plasmáticas (10%). Sofre pequena metabolização no fígado e 85% a 100% da droga são excretadas sem alteração na urina. Apresenta depuração de 2 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ e volume aparente de distribuição bastante baixo de 1 $L.kg^{-1.}$ (BOSCO E BRAZ, 2001)

Foi desenvolvida uma nova molécula a partir do atenolol, visando melhorar em especial sua lipofilicidade, visto que o atenolol possui log P de apenas 0,43(MARVIN) e o ideal proposto pela literatura é de 1 a 3, não ultrapassando 5. A molécula recebeu de

acordo com a IUPAC a seguinte nomenclatura: (2R)-1-(4-{2-oxo-3-[(propan-2-yl)amino]propoxy}phenyl)propan-2-ol.

Imagem 1. Estrutura da nova molécula e dos protótipos com os quais foi comparada.



Fonte: ANDRADE, Enio

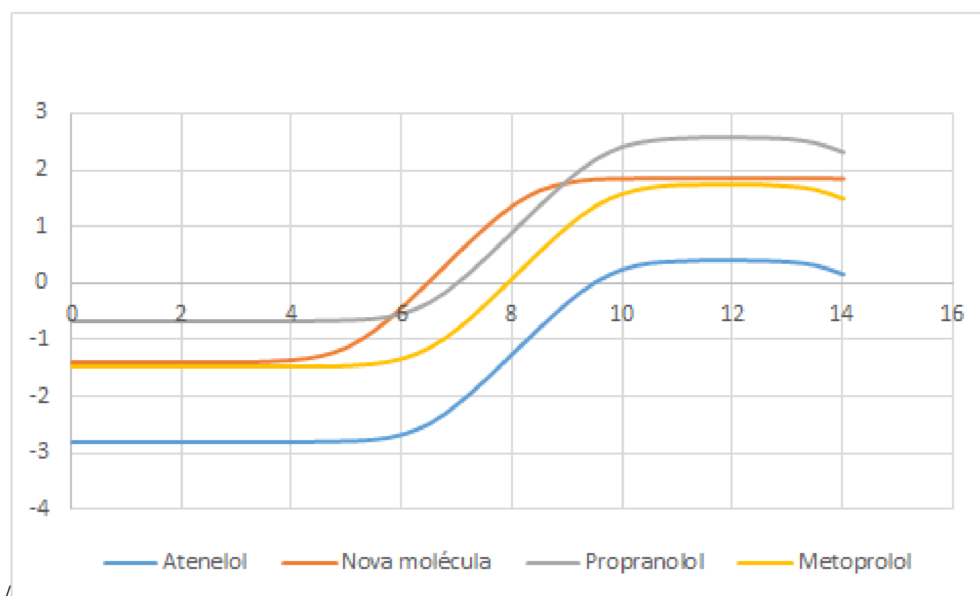
3.1 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Quadro 1. Análise comparativa das propriedades físico-químicas dos protótipos e da molécula confeccionada.

Parâmetros físico-químicos	ATENOLOL	NOVA MOLÉCULA	PROPRANOLOL	METOPROLOL
Massa molecular	266,3361	265,3480	259,3434	267,3639
Log P	0,43	1,84	2,58	1,76
Log D pH 1,5	-2,82	-1,40	-0,66	-1,48
Log D pH 7,4	-1,80	0,89	0,36	-0,47
Nº de doadores	3	2	2	2
Nº de aceptores	4	4	3	4

Fonte: CÉSAR, Isabela

Gráfico comparativo do log D dos protótipos e da molécula confeccionada.



Fonte: ANDRADE, Enio

Existem propriedades que se devem levar em conta e que fazem parte da farmacocinética de um fármaco, isto é, a absorção, distribuição, metabolização e excreção. Propriedades como a estabilidade, a reatividade, solubilidade e permeabilidade são exemplos de propriedades que afetam a farmacocinética. (MOURA E REYES, 2002)

Assim, a incorporação destes conceitos no início das campanhas de *design* de novos fármacos é essencial. As regras de Lipinski, ou “regra dos cinco” é um conjunto de condições empíricas inferidas por Lipinski. Segundo Lipinski, um fármaco ativo via administração oral não deve violar mais do que uma das seguintes condições. (REPOSITORIUM, 2015)

Levando em consideração a regra dos 5, que diz que para que uma molécula se torne um bom fármaco ela não deva possuir massa molecular superior a 500 Dalton, log P superior a 5, número de doadores de hidrogênio superior a 5 e número de aceptores superior a 10, a molécula criada apresenta-se sob boas condições. Mostrando significativa melhora em relação ao Atenolol e ao metoprolol e equivalência com o Propranolol em alguns parâmetros.

O valor de log P refere-se à lipofilicidade das espécies ionizadas . A lipofilicidade muda em função do pH para os compostos ionizáveis . O valor de log D denota a lipofilicidade a um dado pH , o log D e valores de log P são iguais ao valor de pH em que o composto é neutro , ou seja, completamente ionizado. É interessante avaliar o log D, para avaliar também se o fármaco ioniza no intestino, sabe-se que o intestino possui um

pH próximo da alcalinidade. O que pode-se observar no gráfico acima é que a nova molécula não ioniza no intestino, possibilitando uma boa absorção, ou seja, um ponto positivo, equiparando-se assim aos protótipos, isto pode ser observado ao perceber que as curvas permaneceram estáveis a medida que o pH aumenta.

A força das ligações de hidrogênio está relacionada com a natureza dos átomos doadores e aceptores de prótons envolvidos na interação. Um átomo aceptor, que possua um par de elétrons não ligado, pode interagir favoravelmente com um átomo doador que carrega um hidrogênio ácido. (ROCHA, 2001)

A lipofilicidade é definida pelo coeficiente de partição de uma substância entre uma fase aquosa e uma fase orgânica. O conceito atualmente aceito para coeficiente de partição (P) pode ser definido pela razão entre a concentração da substância na fase orgânica (Corg) e sua concentração na fase aquosa (Caq) em um sistema de dois compartimentos sob condições de equilíbrio. Os fármacos que apresentam maior coeficiente de partição (log P), ou seja, têm maior afinidade pela fase orgânica, tendem a apresentar maior taxa de permeabilidade pelas biomembranas hidrofóbicas, apresentando melhor perfil de biodisponibilidade. (ELIEZER, 2001, p.28)

A solubilidade em lipídios e água de cada betabloqueador determina sua biodisponibilidade e o perfil de efeitos colaterais. A lipofilicilidade determina o grau no qual um betabloqueador penetra na barreira hematoencefálica e assim leva aos efeitos colaterais no sistema nervoso central (SNC), tais como letargia, pesadelos, confusões e depressão. O propranolol é muito lipossolúvel, enquanto o metoprolol tem lipofilicidade apenas moderada. Os hidrossolúveis, como o atenolol, têm menor penetração tissular, meia-vida mais longa e causam menos efeitos colaterais no SNC. (DEPARTAMENTOS CARDILOL, 2015)

Como o desejado no início do trabalho, conseguiu-se elevar o Log P da nova molécula, para que assim aumentasse sua potência. Elevou-se o Log P em relação ao metoprolol e ao atenolol, sem elevar a massa, visto que o ideal é que o fármaco atinja os melhores resultados com o menor número de átomos, e menor número de massa, considera-se ótima a modificação feita, vista sob os aspectos físico-químicos.

3.2 PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Quadro 2. Análise comparativa das propriedades farmacocinéticas dos protótipos e da molécula confeccionada.

PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	Atenolol	Nova molécula	Propranolol	Metoprolol
BBB	0.059	0.15	1,25%	0,37
Caco2	8.72	29.81	44,32	43,37
CYP_2C19_inhibition	Não	Não	Não	Não
CYP_2C9_inhibition	Não	Não	Não	Não
CYP_2D6_inhibition	Não	Não	Não	Não
CYP_2D6_substrate	Substrato	Substrato	Substrato	Substrato
CYP_3A4_inhibition	Não	Não	Não	Não
CYP_3A4_substrate	Substrato	Não	Não	Não
HIA	85.33%	91.91%	93,5%	91.75%
MDCK	47.79	177.72	151,68	178.75
Pgp_inhibition	Não	Não	Não	Não
Plasma_Protein_Binding	9.79%	22.23%	63,85%	20.12 %

Fonte: PREADMET

A barreira hematoencefálica é de extrema importância para o sistema nervoso central, pois atua como uma barreira seletiva, controlando a entrada de medicamentos e substâncias tóxicas no SNC. É formada principalmente por células endoteliais presentes nos capilares sanguíneos, tendo peculiaridades em relação aos capilares sistêmicos devido a sua baixa permeabilidade. (VIEIRA, 2013)

A BHE é uma linha divisória importante entre a periferia e o SNC. Um indício de existência da BHE é fornecido pela taxa significativamente menor de acesso de muitos compostos químicos do plasma ao cérebro e a localização de vários sistemas de exportação de fármaco nas células que constituem a BHE. Existe uma exceção para as moléculas lipofílicas, que difundem quase que livremente através da BHE e acumula-se no cérebro. (GOODMAN E GILMAN,2012)

A lipossolubilidade determina o grau no qual um betabloqueador penetra na barreira hematoencefálica e assim leva aos efeitos colaterais no sistema nervoso central (SNC), tais como letargia, pesadelos, confusões e depressão. O propranolol é muito

lipossolúvel, enquanto o metoprolol tem lipossolubilidade apenas moderada. Os hidrossolúveis, como o atenolol, têm menor penetração tissular, meia-vida mais longa e causam menos efeitos colaterais no SNC. (MEDGRUPOE, 2015)

Como pode-se notar na tabela acima, o Atenolol apresenta baixa lipofilicidade, representado principalmente pelo seu coeficiente de partição (log P), sendo de 0,43. O que comprova a afirmação anterior, de que o fármaco que possui baixa lipofilicidade, atravessa pouco ou não atravessa a barreira hematoencefálica.

Já na nova molécula, conseguiu-se melhorar a lipofilicidade da molécula criada, passando a ser 1,84, no entanto, manteve-se a baixa capacidade do fármaco de ultrapassar a barreira hematoencefálica, o que é considerado vantajoso, visto que o propósito inicial seria aumentar a lipofilicidade, sem aumentar a complexidade do fármaco. O atenolol foi desenvolvido para ser uma molécula que seja incapaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica, para que assim não cause efeitos colaterais no SNC, a nova molécula desejava seguir o mesmo propósito.

Caco-2 são células de uma linha celular de câncer epitelial de cólon humano utilizado como um modelo de absorção intestinal humano de drogas e outros compostos. Quando cultivados como uma monocamada, as células Caco-2 diferenciam-se, para formar junções apertadas entre as células para servir como um modelo de movimento paracelular de compostos através da monocamada. Além disso, a células Caco-2 proteínas expressas transportador de efluxo, proteínas e enzimas de conjugação de fase II para modelar uma variedade de vias transcelulares, bem como a transformação metabólica das substâncias de ensaio. Em muitos aspectos, as células Caco-2 imita monocamada de células do epitélio intestinal humano. (NCBI NLM NIH, 2015)

Conseguiu-se aumentar o percentual de absorção in vivo da nova molécula em cerca de 340% em relação ao atenolol, ficando mais próximo do propranolol e do metoprolol, que possuem uma melhor absorção. Ensaio de permeabilidade de Caco-2 Cyprotex utiliza um método estabelecido para predizer a absorção in vivo de drogas através da parede do intestino através da medição da taxa de transporte de um composto através da linha celular Caco-2.A linha celular Caco-2 é derivado de um carcinoma do cólon humano. As células possuem as características que se assemelham a células epiteliais intestinais, tais como a formação de uma monocamada polarizada, borda em escova bem definida na superfície apical e junções intercelulares.Avaliando transporte em ambos os sentidos (apical para basolateral (AB) e basolateral a apical (BA) através da

monocamada de células permite uma proporção de efluxo de ser determinado que fornece um indicador sobre se um composto sofre efluxo activo. (NCBI NLM NIH, 2015).

As proteínas plasmáticas (especialmente albumina) funcionam como reservatório e transportadoras de drogas no plasma. Apenas a fração livre, não ligada a estas proteínas, é capaz de atingir os alvos para ação. Também, um medicamento que tenha alta ligação as proteínas plasmáticas, tem baixa disponibilidade. (SAÚDE GERIÁTRICA, 2015)

Em concentrações terapêuticas no plasma, muitos fármacos encontram-se principalmente na forma ligada. A fração de fármaco livre em solução aquosa pode ser de apenas 1%, estando o restante associado a proteínas plasmáticas. A albumina é a proteína plasmática no que se concerne à ligação de fármacos. (RANG E DALE, 2007)

A distribuição de uma droga é afetada pela sua LPP, uma vez que a droga ligada não fica disponível para se difundir para os outros tecidos; isto significa que drogas altamente ligadas no plasma, como por exemplo, a varfarina, tem a tendência de apresentar um pequeno volume de distribuição; realmente o Vd da varfarina é baixo e se aproxima do volume plasmático (0,05 l/Kg de peso corporal), significando que a varfarina quase não se difunde para os outros tecidos. (INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS, 2015)

A alta ligação às proteínas plasmáticas também implica em uma meia vida maior do fármaco, pois a fração livre é responsável pelos efeitos farmacológicos imediatos, bem como uma baixa LPP implica em alta potência do fármaco, visto que sua fração livre será maior, podendo aumentar a toxicidade do fármaco, maior incidência de efeitos adversos. Partindo desse pressuposto, conclui-se que a molécula criada não apresenta risco ao organismo, a ligação às proteínas plasmáticas aumentou em relação ao atenolol que é cerca de 10 %, já a da molécula criada se apresenta em 22%, semelhante ao metoprolol, 20% de LPP.

A biotransformação de drogas com altas taxas de extração hepática, como o propranolol, envolve a deslocação de seus sítios de ligação e a captação da droga pelas células hepáticas. A ligação das drogas às proteínas plasmáticas pode afetar a biotransformação, que pode estar aumentada se a droga está altamente ligada e é rapidamente eliminada pela biotransformação hepática, pois a LPP age como um sistema de transporte, levando a droga para fígado. Alternativamente, se esta tem uma baixa taxa de extração hepática, a biotransformação pode ser diminuída pela LPP; pois neste último caso, a eliminação metabólica será diretamente proporcional a fração livre de droga

encontrada no sangue assumindo uma cinética de primeira ordem. (INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS, 2015)

A biotransformação é a alteração química sofrida pelo xenobiótico no organismo, comumente sob a ação de enzimas específicas e/ou inespecíficas (MEYER, 1996). Juntamente com os fenômenos de absorção, distribuição e excreção, ela participa da regulação de níveis plasmáticos de drogas. (UNIMEP, 2015)

As enzimas são as responsáveis pelas reações de biotransformação e encontram-se presentes em todo o organismo (sangue, rins, pulmões, pele, tecido nervoso, intestino delgado e fígado). Embora elas estejam distribuídas em todo o organismo, o fígado é, sem dúvida, o órgão que mais as concentra (WATKINS, 1992). Testes bioquímicos realizados com o tecido hepático por centrifugações sucessivas permitiram constatar a presença de enzimas nas diferentes frações denominadas solúvel (desidrogenases, esterases, amidases e transferases), mitocondrial (monoamino oxidases) e microssomal (citocromo P450). (FRANCO, 2003)

O sistema microssomal possui importantes funções metabólicas, além de ser o sistema de sentinela que primeiro apreende e inativa vários xenobióticos no organismo (fig. 1). Para uma droga ser metabolizada pelos microssomas, é necessário ser lipossolúvel, pois essa propriedade facilita a penetração dela no retículo endoplasmático e a sua ligação ao citocromo P450. (FRANCO, 2003)

A inibição pode ocorrer com todos os sistemas enzimáticos, microssomais e não microssomais. Algumas vezes ela é extremamente desejável, como no caso da terapia antidepressiva e uso dos inibidores da monoamino-oxidase (IMAO) ou no da terapia antietílica e uso de inibidores da desidrogenasealdeídica (antabuse). Outras vezes a inibição é extremamente tóxica. Como no caso da inibição da acetilcolinesterase, na intoxicação por praguicidas organofosforados e carbamatos. (FRANCO, 2003)

As consequências da inibição correspondem a menor velocidade de biotransformação, aumento dos níveis do xenobiótico no organismo, aumento dos efeitos farmacológicos e maior incidência de toxicidade da droga. (FRANCO, 2003)

Fármacos que inibem o metabolismo hepático, atrapalham assim o processo metabólico de muitos fármacos, prejudicam a resposta clínica principalmente de pró-fármacos ou de fármacos que geram metabólitos ativos, pois estes necessitam do metabolismo para ter uma resposta terapêutica apreciável. (FARMACOLOGIA CLÍNICA, 2015)

A molécula criada apresentou excelentes resultados, comparados com o próprio atenolol, bem como com os outros fármacos da classe. Apresentou-se negativa para a inibição das seguintes subdivisões: CYP_2C19, CYP_2C9, CYP_2D6, CYP_3A4, já no CYP_2D6, houve formação de substrato. Todos os betabloqueadores comparados, que são: atenolol, metoprolol e o propranolol apresentam caráter negativo para inibição dos CYP. Sendo assim, espera-se que não haja interações negativas, caso a nova molécula venha a se tornar um fármaco, quando administrada concomitantemente com outros fármacos, entende-se que não haverá aumento dos níveis de outros fármacos.

A velocidade e a extensão com as quais um fármaco é absorvido podem variar devido às suas características físico-químicas e fatores relacionados à desintegração e dissolução. Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a dissolução e a permeação intestinal do fármaco podem limitar a absorção e, consequentemente, a ação terapêutica. (SOUZA, 2007)

Fármacos básicos são absorvidos preferencialmente no intestino. Os processos de absorção estão relacionados à permeação de compostos através de membranas biológicas sob influência das características físico-químicas de ambos. O transporte de fármacos para o interior da membrana intestinal é complexo e dinâmico. Ele inclui o transporte passivo, através dos enterócitos (transcelular), das junções entre os enterócitos (paracelular) e os mecanismos ativos, via transportadores. (SOUZA, 2007)

A absorção de substâncias é afetada por fatores fisiológicos relacionados ao TGI, características físico-químicas do fármaco e influência da forma farmacêutica e seus excipientes. A velocidade e a extensão da absorção de um fármaco podem ser alteradas devido à sua lipofilicidade, estado de ionização ou tamanho das partículas. (SOUZA, 2007)

É importante ressaltar que embora a porção do fármaco livre tenha diminuído, diminuindo assim um pouco da biodisponibilidade, conseguiu-se por outro lado, recompensar isto, melhorando a absorção da nova molécula, o atenolol tem absorção intestinal de 85,3%, já a molécula criada apresentou 91,9%. Acredita-se que dessa forma tenha-se diminuído o percentual de potencial toxicidade e efeitos adversos, visto que uma maior parte do fármaco irá funcionar agora como uma espécie de reservatório, por outro lado aumentou-se a biodisponibilidade, à medida que conseguiu-se aumentar a absorção.

A P-gp é uma glicoproteína transmembrânica de peso molecular de 170kD. A P-gp localiza-se especificamente na membrana apical de células secretoras, na qual desempenha um importante papel defensivo mediante secreção de xenobióticos e de

metabólitos para a luz intestinal, urina e bile, e inclusive na proteção cerebral contra um acúmulo excessivo de drogas e metabólitos tóxicos. (MOREIRAJR, 2015)

O transporte de substâncias através da P-gp representa um dos vários mecanismos importantes pelos quais é controlada a distribuição de inúmeras drogas. As drogas que induzem ou que inibem a P-gp podem ter um profundo efeito na farmacocinética e na disponibilidade de drogas transportadas pela P-gp (substratos), possivelmente comprometendo sua biodisponibilidade. Acredita-se que estes mecanismos relacionados à P-gp sejam parcialmente responsáveis pelas interações conhecidas entre drogas que podem levar a uma alteração de biodisponibilidade de certas drogas. (MOREIRAJR, 2015)

Como exemplo, a coadministração de rifampicina (um indutor da P-gp) e digoxina (um substrato da P-gp) diminui a biodisponibilidade da digoxina e a coadministração de eritromicina (um inibidor da P-gp) e talinolol (um substrato da P-gp minimamente metabolizado) aumenta a biodisponibilidade do talinolol. (MOREIRAJR, 2015)

O transporte renal de algumas drogas depende da P-gp, caso for inibida ocasionará em um aumento da biodisponibilidade de outros fármacos administrados concomitantemente e consequentemente aumento da toxicidade. (MOREIRAJR, 2015). A molécula criada não funciona como inibidora da glicoproteína p. Podendo dessa maneira transportar drogas e metabólitos endógenos para fora da célula, afetando desta maneira a distribuição dentro do corpo.

3.1 PROPRIEDADES TOXICOLÓGICAS

Quadro 3: Análise comparativa das propriedades toxicológicas dos protótipos e da molécula confeccionada.

PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS	**Atenolol**	**Nova Molécula**	**Propranolol**	**Metoprolol**
algae_at	0.0867008	.0569427	0.0384572	0.0479124
Ames_test	mutagen	non-mutagen	mutagen	mutagen
Carcino_Mouse	positive	positive	positive	positive
Carcino_Rat	negative	negative	negative	negative
daphnia_at	0.810262	0.42677	0.131855	0.402353
hERG_inhibition	low_risk	low_risk	medium_risk	low_risk
medaka_at	0.855044	0.241138	0.0273908	0.209227
minnow_at	1.25853	0.383036	0.0764577	0.372721
TA100_10RLI	negative	negative	negative	negative
TA100_NA	negative	negative	negative	positive
TA1535_10RLI	negative	negative	negative	negative
TA1535_NA	positive	negative	positive	negative

Fonte: PREADMET

Entre as diferentes abordagens usadas para avaliar a atividade mutagênica de uma substância e, consequentemente, o seu potencial cancerígeno, está o teste de AMES ou teste com Salmonella/fração microssomal de fígado de rato. (MOREIRA, 2002).

O teste de AMES caracteriza-se pela utilização de linhagens indicadoras de Salmonella typhimurium, sensíveis a substâncias capazes de induzir diferentes tipos de mutação. Na presença de agentes mutagênicos, estas linhagens revertem seu caráter de auxotrofia para a síntese de histidina e passam a formar colônias em um meio desprovido deste aminoácido. Desta forma, através da contagem de colônias por placa, é possível estabelecer a ação mutagênica de um composto em função de sua concentração. (MOREIRA, 2002)

A avaliação da atividade mutagênica de novos fármacos é de fundamental relevância para a introdução na terapêutica de compostos mais seguros para uso humano. Ademais, a identificação do potencial mutagênico dos fármacos existentes nos submete à busca de novos compostos. (SANTOS, 2007) A molécula criada apresentou bons

resultados no teste de AMES, diferentemente dos protótipos ela não apresentou mutagenicidade, sendo então uma melhora significante com relação aos outros fármacos da classe.

Há uma relação estreita entre mutagênese e a carcinogênese já que ambas apresentam alterações abruptas em uma única célula, permanentes e herdadas pelas células filhas. Por conta desta relação, recomenda-se a utilização de ensaios de mutagenicidade para a avaliação genotóxica de substâncias já existentes e de novos fármacos. (SANTOS, 2007)

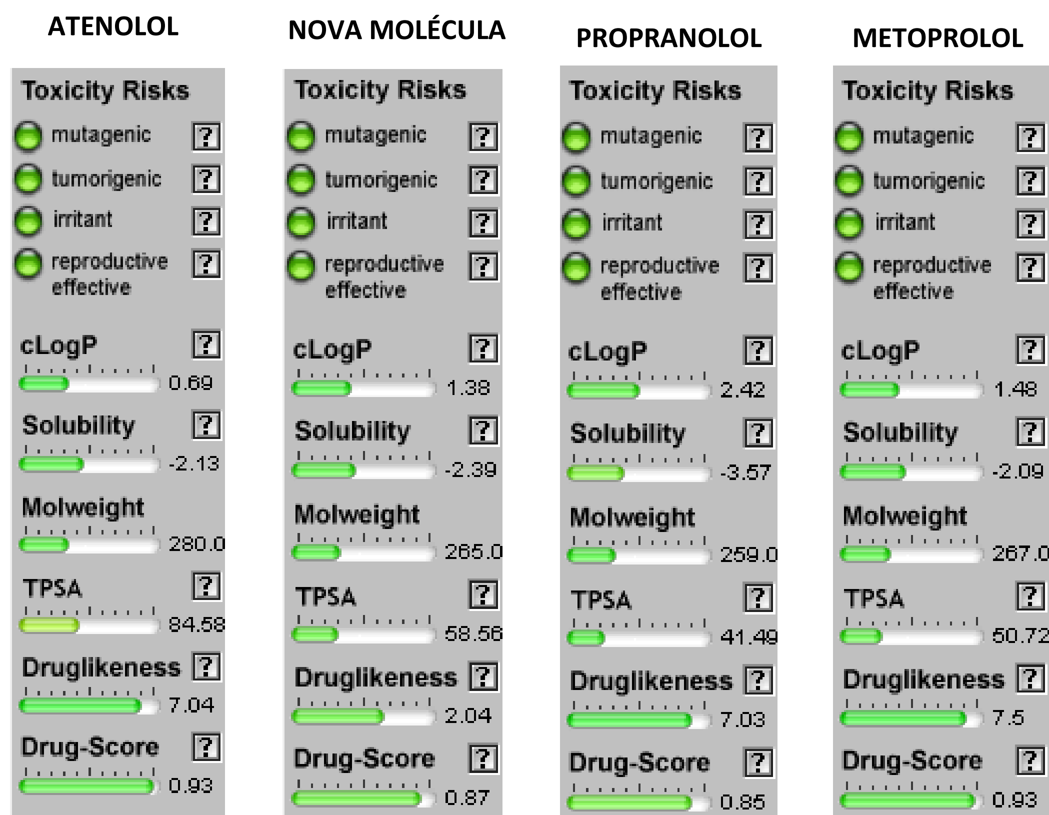
O éter -a- go-go humano gene relacionado (hERG) codifica o canal de potássio voltagem fechado dentro de retificação no coração (IKr) que está envolvida na repolarização cardíaca .A inibição da corrente de hERG provoca prolongamento do intervalo QT resultando em taquiarritmia ventricular potencialmente fatal chamada Torsade de Pointes . Um certo número de drogas foram retiradas a partir de ensaios clínicos de fase tardia devido a estes efeitos cardiotóxicos , por conseguinte, é importante identificar inibidores cedo na descoberta de medicamentos. (CYPROTEX, 2015).

A nova molécula se equiparou ao atenolol e ao metoprolol, sendo de baixo risco cardiotóxico, já quanto ao propranolol apresentou uma melhora significativa, pois este apresenta risco nível médio. Este parâmetro é importante para esses fármacos, já que ambos estão relacionados ao sistema cardiovascular.

Recentemente, mutações em hERG foram mostrados para causar aumento da corrente e síndroma do QT curto hereditária com um alto risco de arritmias que ameaçam a vida. Finalmente, a descoberta de mecanismos adrenérgicos de regulação canal hERG, bem como o desenvolvimento de estratégias para melhorar a correntes hERG e para modificar o processamento da proteína intracelular hERG pode proporcionar novas opções de antiarrítmicos em distúrbios de repolarização. Em conclusão, a crescente compreensão da função do canal hERG e mecanismos moleculares de hERG actual regulamento poderia melhorar a prevenção e tratamento de doenças cardíacas repolarização hERG-associados. (NCBI NLM NIH, 2015)

3.4 Análises gerais no OSIRIS

Imagem 2. Propriedades toxicológicas, farmacocinéticas e físico-químicas do atenelol, nova molécula, metoprolol e do propranolol, analisadas pelo OSIRIS.



Fonte: ORGANIC CHEMISTRY PORTAL

Quadro 4. Análise comparativa pelo OSIRIS das propriedades toxicológicas, farmacocinéticas e físico-químicas dos protótipos e da molécula confeccionada

RISCOS DE TOXICIDADE	Atenolol	Nova Molécula	Propranolol	Metoprolol
Mutagenic	Não	Não	Não	Não
Tumorigenic	Não	Não	Não	Não
Irritant	Não	Não	Não	Não
Reproductive effective	Não	Não	Não	Não
TPSA	84.58	58.56	41.49	50.72
Druglikeness	7.04	2.04	7.03	7.5
Drug-Score	0.93	0.87	0.85	0.93

Fonte: ORGANIC CHEMISTRY PORTAL

Misturas contendo igual quantidades de enantiômeros (50:50) são chamadas de misturas racêmicas (ou racematos) e são opticamente inativas. A falta de atividade óptica, neste caso, é decorrente do fato de que enquanto um dos enantiômeros desvia o plano da luz para um determinado valor, o seu par o desvia, na mesma proporção, na direção exatamente oposta, anulando o resultado final. Este é o caso em que uma substância quiral é inativa opticamente. (LIMA, 1997)

As moléculas com um elemento de quiralidade apresentam enantiomeria. Os enantiômeros são estereoisômeros relacionados entre si por uma simetria em relação a um plano e são também conhecidos como antípodas ópticos. Isômeros ópticos são aqueles que apresentam atividade óptica, possuindo centros quirais ou centros assimétricos. (LIMA, 1997) A molécula apresentou um centro quiral, porém, os resultados obtidos no organic chemistry portal são os mesmos para dos dois isômeros.

Apresentou 0,87 de chances de ser um bom fármaco, parâmetro que varia de zero a um, apresentando então ótimas chances, constatou-se também, assim como os protótipos, ausência de atividade tumorigênica, mutagênica e irritante. Apresentou ainda, potencial de ser um bom fármaco maior do que o do propranolol, que é de 0,85. A polaridade se manteve em ótimos níveis, de forma equilibrada para haver absorção e excreção na mesma proporção, os números estiveram entre os números do metoprolol e do propranolol, apresentou um valor de 58,56, dessa forma, entende-se que há um equilíbrio entre a lipofílicidade e hidrofílicidade. Pode-se observar nas imagens acima, que o atenolol apresenta uma polaridade bem maior que os demais, o que implica na sua baixa lipofilicidade e elevada polaridade.

4. CONCLUSÃO

É importante ressaltar a importância da Modelagem Molecular como planejamento racional da pesquisa. Foi por meio de testes in sílico dos parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos e de ferramentas que foi possível fazer a modificação na estrutura do atenolol e promover comparações da molécula criada com este e outros fármacos da classe, permitindo o surgimento de uma nova molécula da mesma classe. Esta por sua vez alcançou os o objetivo esperado, aumentar a lipofilicidade, sem piorar os outros parâmetros.

Além do aumento da lipofilicidade, importante para a potência da nova molécula, ela também apresentou uma pequena diminuição na massa molecular. Quanto a farmacocinética, parâmetros importantes foram mantidos dentro do padrão esperado, como a passagem pela barreira hematoencefálica, que permaneceu mínima, conseguiu-se aumentar a biodisponibilidade pelo aumento do Log P, bem como pelo aumento da absorção intestinal, sem aumentar os possíveis efeitos indesejados no SNC.

Na parte toxicológica, a molécula obteve um avanço significativo, o atenolol, propranolol e metoprolol são mutagênicos, já a nova molécula não apresentou tal característica. Apresentou ainda caráter negativo para mutagenicidade em todos os modelos do teste de AMES.

Todas as análises comparativas realizadas e também a análise feita no organic chemistry portal indicam que a molécula criada possui grandes chances de se tornar um bom fármaco.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: Artmed, 2001.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.
Barreiro EJ, Rodrigues CR, Albuquerque MG, Sant'anna CMR, Alencastro, RB.

Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. Quim Nova, v. 20, p. 1-11, 1997.

Bosco, F.A.P; Braz, JRC. **Beta-bloqueadores em anestesiologia:** aspectos farmacológicos e clínicos**.** Rev Bras de Anestesiologia. Sociedade Brasileira de Anestesiologia, v. 51(5), p. 431 - 447, 2001.

LIMA,V.L.E. **Os fármacos e a quiralidade:** uma breve abordagem. Quím. Nova, v. 20 (6), p. 657-663, 1997.

MOURA MR, REYES FG. **Interação fármaco-nutriente:** uma revisão. Rev Nutr. 2002; v. 15(2) p.223-38, 2002.

MOREIRA, R. R. R.; SANTOS, L. E.; VARELLA, S. D.; VARANDA, E. A.; VILEGAS, W. **Avaliação da atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de Paepalantuslatipes (Eriocaulácea) e dos compostos flavonoídicos 7- metoxilados relacionados.**Rev Bras de Farmacognosia, v. 12(1), p.11-19, 2002.

OSHIMA-FRANCO, Y.; FRANCO, L. M. **Biotransformação**: importância e toxicidade. Saúde em revista. Piracicaba-SP, v. 5(9), p. 69-76, 2003.
PIZZOL F.D., FREITA Z.,STORPITIS S. **Modelos in vitro para Determinação da Absorção de Fármacos e Previsão da Relação Dissolução/Absorção**. Ver Bras Ter Intensiva., V. 23(2):222-227, 2011.

ROCHA, W.R. **Interações intermoleculares**. Em: AMARAL, L.O.F. e ALMEIDA, W.B. de. (Eds.). Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, (4), p.31-36, 2001.

SOUZA J., FREITA Z.,STORPITIS S. **Modelos in vitro para Determinação da Absorção de Fármacos e Previsão da Relação Dissolução/Absorção**. Rev Bras de Ciências Farmacêuticas, v. 43(4), p. 515-527, 2007.

VIEIRA, G.D.; SOUSA, C.M. **Aspectos celulares e fisiológicos da barreira hematoencefálica.** Ver Bras de Ciências Biológicas, v. 1(4), p. 166-170, 2013.

A importância da glicoproteína P (P-gp) e dos polipeptídios transportadores de ânions orgânicos (OATP) nas interações medicamentosas. Disponível em: < http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=2246>. Acesso em 13 de nov. de 2015.

Betabloqueadores e IAM. Disponível em: <http://medgrupoe.blogspot.com.br/2015/05/betabloqueadores-e-iam.html>. Acesso em 13 de nov. de 2015.

Desenvolvimento e validação de metodologias computacionais de desenho de fármacos baseado em fragmentos químicos**.** Disponível em: <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/23447>. Acesso em 18 de nov. de 2015.

Caco-2 permeability assay. Disponível em: < http://www.cyprotex.com/admepk/in-vitro-permeability/caco-2-permeability> Acesso em: 20 de nov. de 2015.

Farmacocinética. Disponível em: <http://www.saudegeriatrica.com.br/medicina/saude/geriatria/gerontologia/idoso/farma01.html> . Acesso em 13 de nov. de 2015.

Hergsafety. Disponível em: <http://www.cyprotex.com/toxicology/cardiotoxicity/hergsafet> . Acesso em 18 de nov. de 2015.

Metabolismo. Disponível em: <http://farmacologiaclinica.com.br/2014/12/13/metabolismo> Acesso em: 12 de nov. de 2015.

The cardiachERG/IKrpotassiumchannel as pharmacologicaltarget: structure, function, regulation, andclinicalapplications. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16787254>. Acesso em 18 de nov. de 2015.